

**Der Einfluß des Nikotinsäure-
amidophenyldimethylpyrazolons
auf den Katecholamin-
und Ascorbinsäuregehalt
der Nebenniere**

Gudrun Kreiselmaier

1964



Digitized by the Internet Archive
in 2026

**Der Einfluß des Nikotinsäure-
amidophenyl dimethylpyrazolons
auf den Katecholamin-
und Ascorbinsäuregehalt
der Nebenniere**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Gudrun Kreiselmaier
aus Ludwigshafen/Rhein

München 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. SEITZ
Dekan: Professor Dr. W. SEITZ

Tag der mündlichen Prüfung: 19.12.1961



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Problematik	5
Eigene Untersuchungen	7
Methodik	7
Versuchsreihen	8
Statistische Auswertung	12
Diskussion	18
Zusammenfassung	19
Literaturverzeichnis	20

PROBLEMATIK

Nachdem MATHIES (1) feststellen konnte, dass der hyaluronidasehemmende Effekt entsprechend wirksamer Substanzen über eine Aktivierung des Nebennierenmarkes mit Ausschüttung von Katecholaminen zustande kommt, ist es interessant, den Katecholamingehalt der Nebenniere nach Gabe von Substanzen zu untersuchen, bei denen eine hyaluronidasehemmende Wirkung vermutet wird. Solche Substanzen sind in erster Linie Stoffe, die in der Rheumabehandlung einen therapeutischen Effekt aufweisen.

Eine beim Rheumatismus gestörte Permeabilität wird von mehreren Autoren (2-12) beschrieben. Auch sollen nach STÖRMER (13) im Serum von Patienten, die an Infektionen leiden, wie sie zum Rheumatismus führen, Substanzen nachweisbar sein, die eine Schädigung der Kapillarpermeabilität bedingen. Schon EPPINGER (14) demonstrierte eine Permeabilitätsstörung durch Rheumatikerserum am Salamander. Für die Aufrechterhaltung einer normalen Gefäßpermeabilität scheint das Hyaluronidase-Hyaluronsäure-System eine besondere Bedeutung zu besitzen. Die Hyaluronsäuren und die Chondroitinschwefelsäure, die chemisch Mucopolysaccharide darstellen, bilden im wesentlichen die Zwischensubstanzen und werden durch das Enzymgemisch Hyaluronidase durch Depolymerisation und Hyaluronidase abgebaut. Die Aktivität der Hyaluronidase reguliert den Viscositätsgrad der extrazellulären Grundsubstanz und damit die Permeabilität. Ein vermehrter Abbau der Hyaluronsäuren und damit eine Auflockerung des Zellgefüges durch eine vermehrte Hyaluronidaseaktivität steigern die Permeabilität ins Pathologische. Die vermehrte Aktivität der Hyaluronidase wurde beim Rheumatismus von zahlreichen Autoren (15-29) nachgewiesen bzw. beschrieben. Ferner sich nach DORFMAN (30), GOOD u. GLICK (31), GRAIS u. GLICK (32) beim Rheumatismus unspezifische Hyaluronidaseinhibitoren vermehrt, was von STEPANTSCHITZ (28) ebenfalls als Zeichen der beim Rheumatismus erhöhten Hyaluronidaseaktivität gedeutet wird. Nach TERBRÜGGEN (15) hält dabei der Abbau der Hyaluronidase durch die zwar kompensatorisch vermehrten, aber noch nicht ausreichenden Antifermente (Inhibitoren) nicht mit der Neubildung Schritt. Eine Zunahme der Spaltprodukte der Hyaluronsäure (Glucuronsäure und Glucosamin) bestätigt die gesteigerte Hyaluronidaseaktivität.

Eine in vivo-hyaluronidasehemmende Wirkung wurde bei den meisten in der Rheumatherapie verwendeten chemischen Substanzen bereits nachgewiesen, so für Salicylate, Pyrazol- oder Pyrazolonabkömmlingen, Cortison u. a. (33). Damit ist nicht gesagt, dass die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität durch Antirheumatika den hauptsächlichen Wirkungsmechanismus dieser Stoffe darstellt. Sicher ist, dass auch eine analgetische Komponente eine besondere Bedeutung besitzt. Daneben dürften noch mehrere bisher nicht bekannte Wirkungsmechanismen bestehen. Bei anderen Behandlungsmethoden, wie z. B. Chloroquin

(Resochin) (33), Moor- u. Schwefelbäder spielt eine analgetische Wirkung keine Rolle, wodurch der von MATHIES u. Mitarbeitern (33, 34) nachgewiesene hyaluronidasehemmende Effekt eine grössere Bedeutung erlangt. Das therapeutische Ergebnis solcher Stoffe, die keine analgetische, jedoch eine hyaluronidasehemmende Wirkung aufweisen, stellt sicher keinen Momentaneffekt dar. Eine antirheumatische Wirkung ist daher erst nach längerer Applikationsdauer zu erwarten. Dieser Effekt besitzt aber auch bei den Substanzen die Bedeutung einer nachhaltigen Wirkung, die neben einer analgetischen auch eine hyaluronidasehemmende Wirkung aufweisen. Zudem stellt die Feststellung der Hyaluronidasehemmung durch Antirheumatika eine leicht durchführbare Methodik zur Prüfung einer Wirksamkeit dar, die zumindest einen wichtigen Teileffekt beinhaltet.

MATHIES u. Mitarbeiter (33) haben am Beispiel der Salicylate, des Phenylbutazons, des Chloräthylbenzmethoxazons, der Glucocorticoide und auch des Oestroneisulfates zeigen können, dass deren hyaluronidasehemmende Wirkung bei adrenalectomierten Ratten ausbleibt, bei hypophysektomierten Tieren dagegen erhalten ist. Diese Tatsache beweist zunächst die Notwendigkeit der Nebenniere für das Zustandekommen der Wirkung hyaluronidasehemmender Stoffe. DOMENJOZ (35) konnte zeigen, dass die Ascorbinsäuredepletion der Nebenniere die durch hyaluronidasehemmende Substanzen hervorgerufen wird, an hypophysektomierten Ratten nicht nachweisbar ist. Nach SAYERS u. SAYERS (36) fällt die Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren als Ausdruck der inkretorischen Aktivierung der Nebennierenrinde. Eine solche findet also unter hyaluronidasehemmenden Substanzen statt, kann aber für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung nicht massgebend sein, da die Nebennierenrindenstimulierung bei hypophysektomierten Tieren ausbleibt, obwohl gleichzeitig der hyaluronidasehemmende Effekt erhalten bleibt. Damit ist eine für manche Antirheumatika herangezogene Erklärung ihrer Wirksamkeit im Sinne einer Nebennierenrindenaktivierung zweifelhaft geworden. Da jedoch die Anwesenheit der Nebenniere trotzdem erforderlich zu sein scheint, blieb eine über das Nebennierenmark laufende Wirkung anzunehmen. Diese Feststellung wurde durch Untersuchungen von MATHIES u. Mitarbeitern (37, 38) gestützt, nach denen die Nebennierenmark-Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin bei intravenöser Zufuhr nicht nur bei intakten, sondern auch bei adrenalectomierten Tieren eine Hyaluronidasehemmung gleicher Grössenordnung sichtbar werden lassen. Ferner konnte gezeigt werden, dass die hyaluronidasehemmende Wirkung durch Salicylate, Phenylbutazon und Glucocorticoide durch Ganglienblocker (39) und Ergotaminatratrat (37) als Adrenolyticum aufzuheben ist. Nach EICHHOLTZ (40) blockieren Ganglienblocker in erster Linie auch das Nebennierenmark und Adrenolytica wirken auf freigesetzte Nebennierenmark-Katecholamine im Sinne ihrer bekannten Wirkungsumkehr. Die Tatsache, dass die Ganglienblocker und Adrenolytica wie die Adrenalectomie den hyaluronidasehemmenden Effekt entsprechend wirksamer Substanzen blockieren, spricht weiterhin für eine über das Nebennierenmark laufende Wirkung. MATHIES (33) hat durch Bestimmung des Katecholamingehaltes des Nebennierenmarkes die

Katecholaminausschüttung durch Acetylsalicylsäure (41), Chloräthylbenzmethoxazon (42), Phenylbutazon (43), Hydrocortison (44) und Oestrionsulfat (33) indirekt sichtbar machen können. Dabei ist bemerkenswert, dass bei Phenylbutazon und Oestrionsulfat die Ausschüttung vorwiegend auf Kosten einer Neubildung zu erfolgen scheint, während bei den übrigen Substanzen in erster Linie das vorhandene Normaldepot freigesetzt wird.

Nachdem WILL (45) die hyaluronidasehemmende Wirkung einer weiteren in der Rheumatherapie angewandten Substanz, des Nikotinsäureamidophenyl dimethylpyrazolons (Nicopyron) nachgewiesen hat, sollte in der vorgelegten Arbeit der Einfluss dieser Verbindung auf den Katecholamingehalt der Nebennieren untersucht werden. Da die angewandte Methodik der Katecholaminbestimmung nach BRÜGGEMANN, KARG u. KÄPPELER (46) in gleichem Arbeitsgang die Feststellung des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren gestattet, wurde ebenfalls der Einfluss auf die Nebennierenrindentätigkeit festgestellt. Dabei wurde vorausgesetzt dass diese nach den erwähnten Untersuchungen von MATHIES (1) keine Bedeutung für das Zustandekommen der Hemmung der Hyaluronidaseaktivität besitzt.

* EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Es sollten die Veränderungen des Nebennierengehaltes an Katecholaminen und Ascorbinsäure in den ersten 3 Stunden (180 Min) nach intraperitonealer Injektion von 0,5 ccm einer 4 %igen Nicopyron-Lösung in 1 %igem Tyloseschleim (also 20 mg/Tier) gezeigt werden.

Methodik

Die Versuche wurden an männlichen Ratten im Gewicht von 95 bis 170 g durchgeführt. Die Katecholamin- und Ascorbinsäurebestimmungen der Tiere wurden 15, 30, 60, 90, 120, 150 und 180 Minuten nach der Injektion durchgeführt. Zu diesem Zeitpunkt wurden die Tiere dekapitiert und unmittelbar danach beide Nebennieren herauspräpariert, sorgfältig aus der Kapsel gelöst und gewogen. Die Katecholaminbestimmung wurde nach der von BRÜGGEMANN, KARG u. KÄPPELER (46) angegebenen Methode ausgeführt. Die beiden Nebennieren werden in einem Zentrifugenglas, in dem 5 ml einer 4 %igen Trichloressigsäure vorgelegt sind, mit ca. 50 mg Celite 535 und etwas Quarzsand mit einem Glasstab zerrieben. Das Ganze wird 10 Minuten bei 4000 Umdrehungen zentrifugiert. Die klare Substanz wird schnell vom zurückbleibenden Bodensatz abgeschüttet und daraus werden je 2 ml in Reagenzgläser (a und b) pipettiert. Dazu werden 0,1 ml Bromwasser (gesättigte Lösung: 3,5 g in 100 ml Aqua dest.) und nach kurzem Schütteln innerhalb von 5 bis 10 Sekunden 0,1 ml Anilin (30 Vol. % in 9n H_2SO_4) gegeben. Nach Schütteln werden 0,5 ml Dinitrophenylhydrazin in 2 %iger Lösung von 9n H_2SO_4 hinzugefügt. Anschliessend wird Probe a der Doppelreihe genau 5 Minuten in sie-

dendes Wasser getaucht, dann zusammen mit Probe b 5 Minuten in ein kaltes Wasserbad gestellt. Dabei werden je 5 ml 70 %ige H_2SO_4 dazugegeben. Jetzt erfolgt die Messung im Spektrophotometer in 1 ccm Küvetten bei 546 m μ gegen einen Blindwert. Dieser wird durch das gleiche Verfahren aber ohne Drüse ermittelt. Dann ist Probe a gegen Blindwert Adrenalin + Ascorbinsäure. Probe b nur Adrenalin. Die Differenz, die dem Ascorbinsäuregehalt entspricht, wird errechnet. Zur Umrechnung der erhaltenen Extinktion auf die enthaltene Adrenalin- u. Ascorbinsäuremenge, ist die Anfertigung einer Eichkurve notwendig. Hierzu wird das gleiche Verfahren mit bestimmten Ascorbinsäure- und Adrenalingehalt (2, 5; 25; 50; 100 γ pro 100 ml) statt Nebenniere angewandt. An Hand dieser Eichkurve (Abbildung 1) ist dann der Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren zu bestimmen. Es wurde der Ascorbinsäuregehalt auf 1 mg Nebenniere, der Adrenalingehalt auf 100 g Tier bezogen.

1. Versuchsreihe

Zunächst wurde der Adrenalin- und Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren an unbehandelten Ratten bestimmt. Die genauen Werte gehen aus Tabelle 1 hervor. Der Durchschnitt liegt für Adrenalin bei 23,0 γ für Ascorbinsäure bei 48,4 γ .

2. Versuchsreihe

Hier wurde der Adrenalin- und Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren von Tieren bestimmt, die in bestimmten Abständen nach der Nicopyronapplikation dekapiert wurden. Dabei ergab sich bei 15 Minuten ein Durchschnittswert von 17,1 γ für Adrenalin und 36,0 γ für Ascorbinsäure, bei 30 Minuten 18,2 γ und 32,1 γ , 60 Minuten 17,3 γ und 19,4 γ , 90 Minuten 18,3 γ und 29,0 γ , 120 Minuten 17,4 γ und 20,4 γ , 150 Minuten 19,5 γ und 33,1 γ , 180 Minuten 19,4 γ und 38,1 γ . Die Einzelwerte sind den Tabellen 2-8, die Mittelwerte den Tabellen 9-10 zu entnehmen.

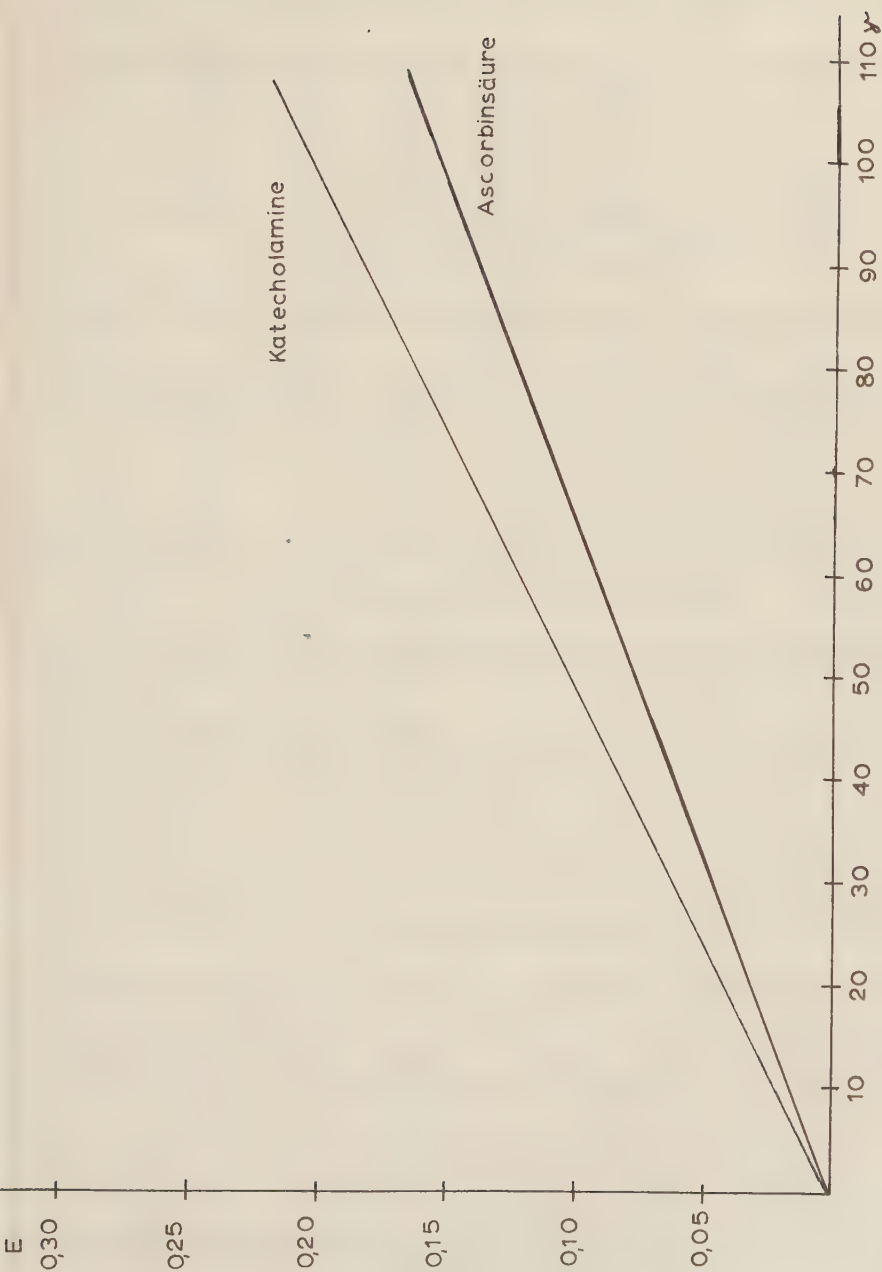


Abbildung 1

Tier Nr.	Tier- Gew. in g	NN-Gew. in mg	Adren. Ext.	Ascor. Ext.	Adren. γ (abs.)	Adren. $\gamma/100g$ Tier	Ascor. γ (abs.)	Ascor. γ/mg NN
1	105	23	0,050	0,054	25	23,8	34	26,1
2	125	25	0,054	0,105	27,0	21,6	64	25,6
3	170	20	0,071	0,070	35,0	25,9	44	22,0
4	130	18,5	0,054	0,070	27,0	20,8	44	23,8
5	95	31	0,044	0,104	22	23,2	65,5	21,1

TABELLE 1: (Versuchsreihe 1, unbehandelte Tiere)

Tier Nr.	Tier- Gew. in g	NN-Gew. in mg	Adren. Ext.	Ascor. Ext.	Adren. γ (abs.)	Adren. $\gamma/100g$ Tier	Ascor. γ (abs.)	Ascor. γ/mg NN
1	165	15	0,057	0,077	26,25	16,0	48,5	32,3
2	155	19,5	0,053	0,115	25,25	16,2	72,5	37,1
3	165	20,5	0,064	0,143	32,5	19,7	77,5	32,9
4	135	22,5	0,054	0,162	27,0	20,0	105,0	46,6
5	105	20,5	0,028	0,100	14,0	13,4	63,5	30,9

TABELLE 2: (Versuchsreihe 2, 15 Minuten p.i.)

Tier Nr.	Tier- Gew. in g	NN-Gew. in mg	Adren. Ext.	Ascor. Ext.	Adren. γ (abs.)	Adren. $\gamma/100g$ Tier	Ascor. γ (abs.)	Ascor. γ/mg NN
1	115	11,5	0,040	0,096	20,0	17,3	35	30,4
2	125	20,5	0,051	0,165	25,0	20,0	72	35,1
3	135	15	0,051	0,134	25,0	18,5	52,2	35,6
4	115	15	0,051	0,136	25,0	21,7	53,5	35,6
5	115	15,5	0,031	0,094	15,25	13,3	38,75	24,9

TABELLE 3: (Versuchsreihe 2, 30 Minuten p.i.)

Tier Nr.	Tier- Gew. in g	NN-Gew. in mg	Adren. Ext.	Ascor. Ext.	Adren. γ (abs.)	Adren. $\gamma/100g$ Tier	Ascor. γ (abs.)	Ascor. γ/mg NN
1	125	20	0,050	0,110	25,0	20,0	48,5	24,2
2	125	20	0,034	0,034	17,0	13,6	32,0	16,0
3	135	20	0,044	0,060	21,5	15,9	26,25	13,1
4	125	18	0,054	0,074	27,0	21,6	32,5	17,9
5	115	19	0,042	0,110	21,0	15,6	49,0	25,7

TABELLE 4: (Versuchsreihe 2, 60 Minuten p.i.)

Tier Nr.	Tier-Gew. in g	NN-Gew. in mg	Adren. Ext.	Ascor. Ext.	Adren. γ (abs.)	Adren. $\gamma/100g$ Tier	Ascor. γ (abs.)	Ascor. γ/mg NN
1	130	19	0,049	0,071	24,25	18,7	45,0	23,6
2	130	16	0,039	0,098	19,5	15,0	62,0	38,7
3	135	21	0,053	0,127	26,25	19,4	80,0	38,9
4	125	20	0,049	0,045	24,25	19,4	28,0	14,0
5	135	20	0,043	0,089	21,25	15,0	56,25	28,1

TABELLE 5: (Versuchsreihe 2, 90 Minuten p.i.)

Tier Nr.	Tier-Gew. in g	NN-Gew. in mg	Adren. Ext.	Ascor. Ext.	Adren. γ (abs.)	Adren. $\gamma/100g$ Tier	Ascor. γ (abs.)	Ascor. γ/mg NN
1	155	20	0,052	0,075	25,25	16,7	47,5	33,7
2	155	22	0,046	0,078	22,5	14,5	49,5	22,5
3	150	26	0,049	0,060	25,5	16,3	37,5	14,4
4	105	20	0,041	0,071	20,5	19,5	44,75	22,3
5	125	24	0,049	0,073	25,0	20,0	46	19,1

TABELLE 6: (Versuchsreihe 2, 120 Minuten p.i.)

Tier Nr.	Tier-Gew. in g	NN-Gew. in mg	Adren. Ext.	Ascor. Ext.	Adren. γ (abs.)	Adren. $\gamma/100g$ Tier	Ascor. γ (abs.)	Ascor. γ/mg NN
1	155	20	0,060	0,083	30,0	19,4	54,25	27,1
2	135	19	0,054	0,088	26,5	19,6	55,0	28,9
3	145	21	0,064	0,107	31,5	21,8	67,5	32,1
4	130	20	0,058	0,114	29,0	22,3	62,0	31,0
5	140	20	0,041	0,147	20,25	14,5	93,0	46,5

TABELLE 7: (Versuchsreihe 2, 150 Minuten p.i.)

Tier Nr.	Tier-Gew. in g	NN-Gew. in mg	Adren. Ext.	Ascor. Ext.	Adren. γ (abs.)	Adren. $\gamma/100g$ Tier	Ascor. γ (abs.)	Ascor. γ/mg NN
1	105	22	0,032	0,130	15,25	14,3	82,5	37,5
2	110	30	0,055	0,115	27,5	25,0	72,5	24,1
3	100	17	0,043	0,137	21,25	21,25	86,25	50,7
4	100	17	0,043	0,149	21,25	21,25	94,75	56,3
5	100	26	0,030	0,190	15,0	15,0	57	21,9

TABELLE 8: (Versuchsreihe 2, 180 Minuten p.i.)

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

Bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse gingen wir von der Annahme aus, dass hinsichtlich des Katecholamin- bzw. des Ascorbinsäuregehalts in jeder der Versuchsstufen eine Normalverteilung vorliegt, wobei die in jeder Stufe beobachteten Versuchstiere eine Stichprobe aus dieser Normalverteilung darstellen. Jede Normalverteilung ist eindeutig gekennzeichnet durch ihren Erwartungswert μ und ihre Varianz σ^2 . Um das Verhalten des Katecholamin- bzw. des Ascorbinsäuregehaltes innerhalb der einzelnen Versuchsstufen zu charakterisieren, war es daher notwendig, aus den Versuchsergebnissen Schätzwerte für diese beiden Parameter der zugehörigen Normalverteilung zu gewinnen. Als Schätzwert für den Erwartungswert μ wählten wir das arithmetische Mittel $\bar{x}$ der Messwerte, die in den einzelnen Versuchsstufen beobachtet wurden; als Schätzwert für die Varianz σ^2 wählten wir die empirische Varianz s^2 zwischen diesen Werten.

Die errechneten Schätzwerte $\bar{x}$ und s^2 für die Parameter der zugehörigen Normalverteilungen für den Katecholamin- bzw. Ascorbinsäuregehalt sind in den Tabellen 9 und 10 wiedergegeben. Diese Tabelle enthält ausserdem die Anzahl "N" der in jeder Versuchsstufe beobachteten Versuchstiere (Stichprobenumfang). Die Normalverteilungen, die zu den einzelnen Versuchsstufen gehören, können sich sowohl hinsichtlich der Grösse ihrer Erwartungswerte als auch hinsichtlich der Grösse ihrer Varianzen unterscheiden. Wir untersuchten zunächst, ob Unterschiede hinsichtlich der Varianzen vorliegen. Hierzu wurde die Hypothese geprüft, dass die in den einzelnen Versuchsstufen beobachteten empirischen Varianzen s^2 alle Schätzwerte der gleichen, von den Versuchsstufen unabhängigen Varianz s^2 sind. Als Test zur Prüfung dieser Hypothese wandten wir den Bartlett-Test an, dessen Ergebnis jeweils am Fuss der zugehörigen Tabelle angegeben ist. Es bedeutet hierin $\chi^2_{emp.}$ die Prüfgrösse des Tests, n die Zahl der Freiheitsgrade der zugehörigen χ^2 -Prüfverteilung, welcher die Prüfgrösse genügt, wenn die Prüfhypothese zutrifft, p ist die Überschreitungswahrscheinlichkeit, welcher der beobachteten Prüfgrösse $\chi^2_{emp.}$ in dieser Prüfverteilung zukommt. Ist diese Überschreitungswahrscheinlichkeit grösser als 5 %, so liefert der Test keinen Hinweis dafür, dass die Hypothese, welche der Prüfung zugrunde liegt, mit den beobachteten Daten nicht verträglich sei.

Sowohl bei dem Katecholamin- als auch bei dem Ascorbinsäuregehalt ergibt der Bartlett-Test eine Prüfgrösse, deren Überschreitungswahrscheinlichkeit wesentlich grösser als 5 % ist. Es darf daher angenommen werden, dass die Normalverteilungen, die zu den einzelnen Versuchsstufen gehören, alle die gleiche Varianz σ^2 besitzen; hieraus folgt, dass sich die Verteilungen innerhalb der einzelnen Versuchsstufen höchstens noch hinsichtlich ihrer Lokalisation d. h. ihres Erwartungswertes unterscheiden können.

Zur Prüfung der Frage, ob Unterschiede zwischen den Erwartungswerten der Normalverteilungen, die zu den einzelnen Versuchsstufen vorliegen, führten wir Varianz-Analysen durch, deren Ergebnisse sowohl für den Katecholamin- als auch

für den Ascorbinsäuregehalt in den Tabellen 11 und 12 wiedergegeben sind. Es bedeutet dabei in den Schemata der Varianz-Analysen

- n: die Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente;
- SAQ: das Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- MAQ: das Mittlere-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- F_{emp} : der Varianz-Quotient zwischen der betreffenden Varianz-Komponente und der Varianz-Komponente "innerhalb der Stufen";
- p: die Überschreitungswahrscheinlichkeit, welche dem Varianz-Quotienten in der zugehörigen F-Prüfverteilung zukommt.

Die Varianz innerhalb der einzelnen Stufen ist ein Ausdruck für die biologische Variabilität zwischen den Versuchstieren. Sie musste daher als "experimentelle Variabilität" der weiteren statistischen Auswertung zugrunde gelegt werden. Etwaige Unterschiede zwischen den Erwartungswerten der einzelnen Versuchsstufen drücken sich in der Varianz-Analyse in der Varianz-Komponente "zwischen den Stufen" aus; nur wenn diese Varianz-Komponente statistisch gesichert wesentlich grösser ist als die "Varianz innerhalb der Stufen" kann behauptet werden, dass zwischen den Erwartungswerten der einzelnen Versuchsstufen Unterschiede vorliegen, die nicht mehr ausschliesslich mit der biologischen Variabilität zwischen den Tieren erklärbar sind. Der Varianz-Quotient F_{emp} , der zur "Varianz zwischen den Stufen" gehört, dient zur Prüfung dieser Frage. Ist seine Überschreitungswahrscheinlichkeit kleiner als 5 %, so kann behauptet werden, dass statistisch gesicherte Unterschiede zwischen den Erwartungswerten der einzelnen Versuchsstufen vorliegen. Es zeigt sich, dass bei dem Katecholamingehalt ein solcher Unterschied nicht statistisch zu sichern ist; bei dem Ascorbinsäuregehalt dagegen liegen statistisch gesicherte Unterschiede zwischen den Mittelwerten der einzelnen Versuchsstufen vor.

Eine Inspektion der empirischen Mittelwerte $\bar{x}$ des Katecholamingehaltes zeigt, dass bei den behandelten Tieren der Katecholamingehalt durchwegs niedriger liegt als bei den Leertieren. Andererseits bestehen zwischen den Mittelwerten der behandelten Tiere keine nennenswerten Unterschiede. In solchen Fällen kann es durchaus vorkommen, dass eine generelle Prüfung der Unterschiede zwischen den Versuchsstufen den realen Unterschied zwischen Leertieren und den behandelten Tieren nicht zum Ausdruck bringt. Es war daher zweckmässig, in diesem Falle an die generelle Varianz-Analyse noch einen orthogonalen Vergleich anzuschliessen, bei dem einerseits die Wirkung der "Prüfsubstanz" andererseits der Unterschied zwischen den Mittelwerten der einzelnen Versuchszeiten geprüft wird. Wir führen dieses sowohl für den Katecholamin- als auch für den Ascorbinsäuregehalt durch und es zeigte sich, dass es gerechtfertigt ist zu behaupten, durch die Applikation von Nicopyron werde im Mittel eine wesentliche Erniedrigung des Katecholamin- und des Ascorbinsäuregehaltes während des gesamten Versuchsablaufes gegenüber demjenigen der Leertiere erzielt. Für den Ascorbinsäuregehalt ergibt sich ausserdem, dass zwischen den Werten, die zu den ein-

zelen Versuchszeiten gehören, ebenfalls Unterschiede bestehen. Für den Katecholamengehalt ist dieses nicht der Fall.

Einen allgemeinen Überblick über die Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsstufen geben die Tabellen 13 und 14. In diesen Tabellen ist für je 2 Versuchsstufen der Unterschied zwischen den zugehörigen arithmetischen Mitteln $\bar{x}$ angegeben, und zwar jeweils die Veränderung zu der am Kopf einer Spalte stehenden Stufe gegenüber der am Anfang einer Zeile stehenden Stufe. Unterhalb der Diagonalen dieser Tabellen ist dann die Irrtumswahrscheinlichkeit aufgeführt worden, mit der behauptet werden kann, diese Veränderung sei statistisch von Null verschieden. Diese Irrtumswahrscheinlichkeit wurde mit Hilfe des Student-Tests errechnet.

Aus der ersten Zeile dieser Tabellen ergibt sich jeweils das Verhalten der behandelten Versuchstiere gegenüber den Leertieren, wie es oben geschildert wurde. Diese Mittelwertsdifferenzen sind durchweg negativ.

	N	$\bar{x}$	s^2
L	5	22,96	2,3030
15'	5	17,06	7,7180
30'	5	18,16	10,0980
60'	5	17,34	11,0780
90'	5	17,50	5,2900
120'	5	17,40	5,3200
150'	5	19,52	9,5370
180'	5	19,36	20,8917

$$n = 7; \quad \chi^2_{\text{emp.}} = 5,503; \quad 50 \% < p < 70 \%$$

TABELLE 9: (Adrenalin)

	N	$\bar{x}$	s^2
L	5	4,84	0,1157
15'	5	3,60	0,4072
30'	5	3,23	0,2200
60'	5	1,94	0,2906
90'	5	2,87	1,1162
120'	5	2,24	0,5065
150'	5	3,31	0,5965
180'	5	3,81	2,3720

$$n = 7; \quad \chi^2_{\text{emp.}} = 12,820; \quad 5 \% < p < 10 \%$$

TABELLE 10: Ascorbinsäure)

Varianz-Komponente	N	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Innerhalb Stufen	32	288,9430	9,0295		
Zwischen Stufen	7	136,0257	19,4322	2,15	-
Prüfsubstanz	1	105,5343	105,5343	11,69	1 %
Zw. Versuchszeiten	6	30,4914	5,0819	-	-
Gesamt-Varianz	39	424,9687	10,8966		

TABELLE 11 : (Adrenalin)

Varianz-Komponente	N	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Innerhalb Stufen	32	22,4988	0,7031		
Zwischen Stufen	7	29,2230	4,1747	5,94	0,1 %
Prüfsubstanz	1	14,7936	14,7936	21,04	0,1 %
Zw. Versuchszeiten	6	14,4294	2,4049	3,42	1,0 %
Gesamt-Varianz	39	51,7218	1,3262		

TABELLE 12 : (Ascorbinsäure)

	L	15'	30'	60'	90'	120'	150'	180'
L		- 5,90	- 4,80	- 5,62	- 5,46	- 5,56	- 3,44	- 3,60
15'			1,10	0,28	0,44	0,34	2,46	2,30
30'				- 0,82	- 0,66	- 0,76	1,36	1,20
60'					0,16	0,06	2,18	2,02
90'						- 0,10	2,02	1,86
120'							2,12	1,96
150'								- 0,16
180'								

Leertiere Mittelwert: 22,96

Behandelte Tiere Mittelwert: 18,05

Mittlere Senkung des Adrenalinalgehaltes durch Nicopyron während insgesamt 180': - 4,91, Sicherung 1 %

TABELLE 13

	L	15'	30'	60'	90'	120'	150'	180'
L		- 1, 24	- 1, 61	- 2, 90	- 1, 97	- 2, 60	- 1, 53	- 1, 03
15'	5, 0 %		- 0, 37	- 1, 66	- 0, 73	- 1, 36	- 0, 29	0, 21
30'	1, 0 %	-		- 1, 29	- 0, 36	- 0, 99	0, 08	0, 58
60'	0, 1 %	1, 0 %	5, 0 %		0, 93	0, 30	1, 37	1, 87
90'	1, 0 %	-	-	-		- 0, 63	0, 44	0, 94
120'	0, 1 %	5, 0 %	-	-	-		1, 07	1, 57
150'	1, 0 %	-	-	5, 0 %	-	-		0, 50
180'	-	-	-	1, 0 %	-	1, 0 %	-	

Leertiere Mittelwert: 4, 84

Behandelte Tiere Mittelwert: 3, 00

Mittlere Senkung des Ascorbinsäuregehaltes durch Nicopyron während insgesamt 180' : - 1, 84, Sicherung 0, 1 %

TABELLE 14

DISKUSSION

Die Versuchsergebnisse zeigen, dass nach Nicopyronapplikation ein deutlicher Abfall des Katecholamingehaltes unter den Normalwert erfolgt. Bei einem Normalgehalt der Nebenniere an Katecholaminen von 23,0 γ /100 g Tier und dem darauffolgenden Minimalwert nach Nicopyrongabe von 17,1 γ /100 g Tier beträgt die Differenz fast 6 γ . Dieser Minimalwert wird bereits 15 Minuten nach Nicopyronapplikation erreicht. 180 Minuten nach Nicopyronapplikation liegt der Wert mit 19,4 γ /100 g Tier immer noch deutlich unter dem Normalwert. Da der Abfall des Katecholamingehaltes der Nebenniere naturgemäss aus Ausschüttung und etwaiger gleichzeitiger Neubildung resultiert, kann ausgesagt werden, dass die Katecholaminausschüttung unter Einfluss des Nicopyrons im Zeitraum von 15 Minuten mindestens 6 γ beträgt. Nach MATHIES (38) reicht diese Menge aus, um eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität zu bewirken. 1 γ Adrenalin bzw. Noradrenalin/100 g Tier mit einer Injektionsgeschwindigkeit von 1 γ /Min führt zu einer Hyaluronidasehemmung von 22,5 bzw. 57,2 % 15 Minuten nach der i.v. Injektion. Höhere Dosen lassen ein zeitlich etwas höher gelegenes Maximum des hyaluronidasehemmenden Effektes erkennen. Damit ist auch im Falle des Nicopyrons die Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark als Voraussetzung für die hyaluronidasehemmende Wirkung anzunehmen. Diese Katecholaminausschüttung erfolgt wie bei Acetylsalicylsäure und Hydrocortison vorwiegend auf Kosten des Normalgehaltes, da nur ein Abfall der Katecholamine konstatiert wird.

Die Bestimmungen des Ascorbinsäuregehaltes der Nebenniere zeigen in ihrem Leerwert einen Gehalt von 4,84 γ /mg Nebenniere. 30 Minuten nach Nicopyrongabe fällt er bereits auf 3,3 γ , um 60 Minuten p.i. den Minimalwert von 1,9 γ /mg Nebenniere zu erreichen. Anschliessend erfolgt ein Wiederanstieg auf den höchsten Wert von 3,8 γ /mg Nebenniere 180 Minuten p.i. Dass die Injektion von Tylose-schleim als Lösungsmittel keinen wesentlichen Einfluss auf den Katecholamingehalt der Nebenniere ausübt, konnten bereits MATHIES und v. WERTHER (42) zeigen. Der Versuch mit den notwendigen Vorbereitungen bedeutet auch für das weitgehend vorgewohnte Tier eine nicht unerhebliche Belastung auf die die Nebenniere nicht unwesentlich reagiert. Es ist daher der Ascorbinsäureabfall sicher nicht allein ein Effekt der geprüften Versuchssubstanz. Aus den oben genannten Gründen kommt jedoch einer etwaigen Nebennierenstimulieren keine Bedeutung zu, so dass der fragliche Aussagewert besonders hinsichtlich der Nicopyronspezifität ohnehin unwesentlich erscheint.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde mittels der photometrischen Methode nach BRÜGGEMANN, KARG und KÄPPELER (46) der Einfluss des Nicopyrons (Nikotinsäureamidophenyldimethyl-Pyrazolon) auf den Katecholamin- und Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren untersucht. Wie bei anderen hyaluronidasehemmenden Substanzen sinkt der Katecholamingehalt der Nebenniere, woraus eine Ausschüttung der Katecholamine aus den Nebennieren abgeleitet wird. Nach den Ergebnissen anderer Autoren kommt diesem Effekt eine Bedeutung bei der hyaluronidasehemmenden Wirkung des Nicopyrons zu. Auch der Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren zeigt eine deutliche Abnahme. Die daraus ersichtliche Aktivierung der Nebennierenrinde spielt jedoch für den hyaluronidasehemmenden Effekt des Nicopyrons keine Rolle.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Mathies, H. : Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 64, 617 (1958)
- 2) Armentano, L. u. Mitarb. : Dtsch. med. Wschr. 62, 1325 (1939)
- 3) Astapenko, M. G. : Ther. Arch. 22, 69 (1950)
- 4) Brown, E. E., Wasson, V. P. : J. Pediatr. St. Louis 18, 328 (1941)
- 5) Epstein, E. L., Greenspan, E. B. : Arch. Int. Med., Chicago, 1077 (1941)
- 6) Gil, J. R. u. Guerra, F. : Arch. Int. Cardiol. Mex. 17, 733 (1947)
- 7) Jawashi, A. A. u. Mitarb. : J. Pediatr. 37, 697 (1950)
- 8) Ratschow, M. : Ther. Gegenw. 90, 129 (1951)
- 9) Schmidt, H. u. Mitarb. : Dtsch. med. Wschr. 75, 790 (1950)
- 10) Schoen, R. : 9. Fortb. Kurs f. Ärzte, Regensburg Oktober 1952
- 11) Warter, P. J. u. Mitarb. : Med. Journ. 30, 41 (1948)
- 12) Klose, W. : Zschr. Rheumaforsch. 12, 136 (1953)
- 13) Storme, A. : Medizinische 703, 739 (1953)
- 14) Eppinger, H. : Klin. u. Path. d. Permeabilitätsstör., Wien 1944
- 15) Terbrüggen, H. : Dtsch. med. Journ. 5, 312 (1954)
- 16) Terbrüggen, H. : Ärztl. Prax. 6, 40 (1954)
- 17) Abrahams, G., Glynn, J. : Clin. Sci. 8, 711 (1949)
- 18) Evers, A. : zit. Schliephake, E., Smets, R. : Münch. med. Wschr. 97, 56 (1955)
- 19) Glick, D. u. Sylvén, B. : Science 113, 388 (1951)
- 20) Guerra, F. : Science 103, 696 (1949)
- 21) Hartmann u. Matijeved : Zschr. Rheumaforsch. 2, 23 (1952)
- 22) Jahnke : Ärztl. Wschr. 6, 1153 (1951)
- 23) Klemperer, A. : Amer. J. Med. 10, 405 (1951)
- 24) Meyer, K. : Physiol. Rev. 27, 335 (1947)
- 25) Rimington, C. : Ann. Rheumat. Diss. 8, 34 (1949)
- 26) Seifter, J. u. Mitarb. : Proc. Soc. Exp. Med. Biol. 72, 277 (1949)
- 27) Schoen, R. : Dtsch. med. Wschr. 77, 558 (1952)

- 28) Stepantschitz, G. : Oesterr. Ärztekongr. d. Van-Swieten-Ges. Salzburg September 1953
- 29) Stepantschitz, G. u. Kresbach, E. : Zschr. Rheumaforsch. 13, 266 (1954)
- 30) Dorfman, E. : Ann. N. Y. Acad. Sci. 52, 1098 (1950)
- 31) Good, R. A. u. Glick, D. : J. Infect. Dis., Chicago, 86, 38 (1950)
- 32) Grais, M. L. u. Glick, D. : J. Infect. Dis., Chicago, 85, 101 (1949)
- 33) Mathies, H. : Zschr. Rheumaforsch. 18, 205 (1959)
- 34) Mathies, H. u. Gareissen, G. : Med. Klin. 55, 190 (1960)
- 35) Domenjoz, R. : Arch. exp. Path. Pharm. 225, 14 (1955)
- 36) Sayers, G. u. Sayers, M. : Endocrinology 40, 256 (1947)
- 37) Mathies, H., Glück, A., Poulantzas, J. u. Schmidt, D. : Med. Exp. 1, 64 (1959)
- 38) Mathies, H. : Arch. int. pharmacodyn. 123, 334 (1960)
- 39) Mathies, H. u. Mitarb. : in Vorbereitung
- 40) Eichholtz, P. : Lehrb. d. Pharmakol., Springer. Berlin-Göttingen-Heidelberg (1957), 80
- 41) Mathies, H., Biechele, I. u. Hartmann, M. : Ärztl. Forsch. XIV, I/160 (1960)
- 42) Mathies, H. u. v. Werther, G. : Arzneimittelforsch. 9, 576 (1959)
- 43) Mathies, H. : Med. Mschr. 11, 791 (1957)
- 44) Mathies, H. : Zschr. ges. exp. Med. 131, 118 (1959)
- 45) Will, E. : Diss. München 1960
- 46) Brüggemann, J., Karg, H. u. Käppeler, O. : Vitamine u. Hormone 7, 200 (1956)

Ich danke Herrn Professor Dr. W. SEITZ für die Überlassung des Themas. Herrn Dr. H. MATHIES danke ich sehr für die Beratung bei der Durchführung der Versuche und bei der Abfassung der Arbeit, ausserdem Herrn Dipl. -Math. K. LIEBRICH für die statistische Berechnung der Versuchsergebnisse.

LEBENS LAUF

1936 wurde ich in Ludwigshafen als Tochter des Dipl. -Ing. E. Kreiselmaier und seiner Frau Maximiliane, geb. Finkenzeller, geboren.

Ich besuchte 5 Jahre die Volksschule in Stettin, Pölitz, Ziegenort, Biedenkopf und Hofgeismar. Dann ging ich 8 Jahre zur Oberschule, davon 2 Jahre in Hofgeismar und 6 Jahre in Gelsenkirchen-Buer, wo ich 1956 an einem neusprachlichen Mädchengymnasium mein Abitur machte.

Anschliessend begann ich in Freiburg das medizinische Studium. Nach einem Semester ging ich nach München, wo ich nach 4 weiteren Semestern das Physikum machte. Im Herbst 1961 möchte ich hier mein Staatsexamen ablegen.

